

Н. М. Романов<sup>1</sup>, М. В. Андреева<sup>1</sup>, Е. В. Чихиржина<sup>1,2</sup>, А. М. Поляничко<sup>1,2</sup>

## ИНФРАКРАСНАЯ СПЕКТРОСКОПИЯ РАСТВОРОВ АЛЬБУМИНОВ В ПРИСУТСТВИИ ИОНОВ МЕТАЛЛОВ\*

<sup>1</sup> Санкт-Петербургский государственный университет,

Российская Федерация, 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., 7–9

<sup>2</sup> Институт цитологии Российской академии наук,

Российская Федерация, 194064, Санкт-Петербург, Тихорецкий пр., 4

В работе изучали взаимодействие сывороточного альбумина человека (САЧ) с двухвалентными ионами металлов  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{Mn}^{2+}$  при различных молярных соотношениях  $[\text{Me}^{2+}] : [\text{САЧ}]$ . Анализ взаимодействия проводили методами ИК-фурье-спектроскопии и тепловой денатурации белка в растворе. На основании анализа ИК-спектров показали, что взаимодействие САЧ с ионами  $\text{Mn}^{2+}$  и  $\text{Ca}^{2+}$  в растворах приводит к увеличению доли  $\beta$ -слоёв и уменьшению доли  $\alpha$ -спиральных участков во вторичной структуре белка, однако, механизмы наблюдаемых изменений для ионов  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{Mn}^{2+}$  различны, что также подтверждается в экспериментах тепловой денатурации белка в растворе. Библиогр. 15 назв. Ил. 4. Табл. 2.

**Ключевые слова:** САЧ, ИК-фурье-спектроскопия, вторичная структура белков, ионы металлов.

**Для цитирования:** Романов Н. М., Андреева М. В., Чихиржина Е. В., Поляничко А. М. Инфракрасная спектроскопия растворов альбуминов в присутствии ионов металлов // Вестник СПбГУ. Физика и химия. 2017. Т. 4 (62). Вып. 2. С. 146–152. DOI: 10.21638/11701/spbu04.2017.204

*N. M. Romanov<sup>1</sup>, M. V. Andreeva<sup>1</sup>, E. V. Chikhirzhina<sup>1,2</sup>, A. M. Polyanychko<sup>1,2</sup>*

## INFRARED SPECTROSCOPY OF HUMAN SERUM ALBUMIN IN THE PRESENCE OF METAL IONS

<sup>1</sup> St. Petersburg State University,

7–9, Universitetskaya nab., St. Petersburg, 199034, Russian Federation

<sup>2</sup> Institute of Cytology of the Russian Academy of Sciences,

4, Tikhoretskiy pr., St. Petersburg, 194064, Russian Federation

The interaction of human serum albumin (HSA) with divalent metal ions  $\text{Ca}^{2+}$  and  $\text{Mn}^{2+}$  was studied at various molar ratios  $[\text{Me}^{2+}] : [\text{HSA}]$ . The interaction was studied by means of FTIR spectroscopy and protein heat denaturation in solution. Based on the analysis of the FTIR spectra we have shown that the interaction of HSA with  $\text{Ca}^{2+}$  and  $\text{Mn}^{2+}$  ions in solution leads to increase in the amount of  $\beta$ -sheet structures accompanied by decreasing  $\alpha$ -helical content in the protein's secondary structure. However, experiments of protein heat denaturation in solution has demonstrated that the mechanism of these changes is different for  $\text{Ca}^{2+}$  and  $\text{Mn}^{2+}$ . Refs 15. Figs 4. Tables 2.

**Keywords:** albumins, FTIR spectroscopy, secondary structure of proteins, metal ions.

**For citation:** Romanov N. M., Andreeva M. V., Chikhirzhina E. V., Polyanychko A. M. Infrared spectroscopy of human serum albumin in the presence of metal ions. *Vestnik SPbSU. Physics and Chemistry*. 2017, vol. 4 (62), issue 2, pp. 146–152. DOI: 10.21638/11701/spbu04.2017.204

\* По материалам IV конференции «Современные проблемы молекулярной биофизики», посвящённой 50-летию специализации «Молекулярная биофизика» на физическом факультете и 105-летию со дня рождения профессора Э. В. Фрисман, 14–15 июня 2016 г., СПбГУ, Санкт-Петербург, Россия, URL: <http://molbioph.niif.spbu.ru/conference>.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (гранты № 15-08-06876, 15-04-06993).

© Санкт-Петербургский государственный университет, 2017

**Введение.** Благодаря способности сывороточных альбуминов (СА) связываться с различными органическими и неорганическими соединениями, эти белки играют важнейшую роль в транспорте лекарственных препаратов, малых органических молекул, ионов металлов [1, 2]. Несмотря на то, что транспорт ионов металлов сывороточными альбуминами изучается достаточно давно [3, 4], данные о местах связывания ионов и о структуре образующихся комплексов крайне фрагментарны [5–7]. Исследование подобных систем сильно осложняется относительно большими размерами молекул СА и высокими физиологическими концентрациями [5], что делает мало информативными стандартные методы структурного анализа [8]. В своей работе мы использовали подход, основанный на анализе спектров ИК-поглощения, который позволяет не только преодолеть ограничения традиционных спектроскопических методик [8], но и даёт возможность получить информацию о содержании в белке большего числа разновидностей элементов вторичной структуры [9]. В ходе работы нами предпринята попытка анализа изменений вторичной структуры сывороточного альбумина человека (САЧ) в ответ на связывание ионов  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{Mn}^{2+}$ .

**Материалы и методы.** В работе использовали сывороточный альбумин человека (10% раствор для инфузий, НПО «Микроген», Россия). Соли  $\text{CaCl}_2$  и  $\text{MnCl}_2$  («Реахим», Россия). Водные растворы комплексов белков с ионами металлов готовили в диапазоне молярных соотношений  $[\text{Me}^{2+}] : [\text{САЧ}]$  от 0 : 1 до 10 : 1. Все водные растворы готовили с использованием ультрачистой воды (Direct-Q System, Millipore, США).

**ИК-спектроскопия.** Процедура изотопного замещения растворителя проводилась по описанной ранее методике [10, 11], с использованием концентратора биомолекул Concentrator plus (Eppendorf, Германия). В работе использовали тяжелую воду фирмы Sigma (99,9%  $\text{D}_2\text{O}$ , США). Конечная концентрация белков в пробах составляла 30 мг/мл. Для регистрации спектров поглощения в среднем ИК-диапазоне использовали фурье-спектрометр Tensor 27 (Bruker, Германия) в сочетании с разборной кюветой с окнами из  $\text{CaF}_2$  и с длиной оптического пути 50 мкм. В ходе измерений оптические пути прибора продували сухим газообразным азотом. Регистрацию спектров производили с применением низкошумящего МСТ-детектора ( $\text{HgCdTe}$ ), охлаждаемого жидким азотом. Спектральный диапазон, регистрируемый в эксперименте, составлял  $4000\text{--}800\text{ см}^{-1}$ . Спектры каждого образца регистрировали с разрешением  $2\text{ см}^{-1}$  и усредняли по 512 накоплениям.

Обработку результатов проводили с использованием программного обеспечения OPUS, поставляемого вместе с прибором.

**Тепловая денатурация белковых комплексов.** Концентрация белка в конечных пробах составляла 40 мг/л. Исследованию подлежали растворы белка САЧ и его комплексы с ионами металлов  $\text{Mn}^{2+}$  и  $\text{Ca}^{2+}$  в молярном соотношении  $[\text{Me}^{2+}] : [\text{САЧ}] = 10 : 1$ . Также была проведена контрольная серия экспериментов, в которой ионную силу водных растворов белка, аналогичную таковой для растворов белков в присутствии  $\text{CaCl}_2$  и  $\text{MnCl}_2$ , создавали добавлением соли  $\text{NaCl}$ , дающей в растворе ионы, не способные к специфическому связыванию.

В работе использовали спектрометр Specord Plus (Analytik Jena, Германия). Зависимость оптической плотности раствора белка от температуры  $D(T)$  регистрировали на длине волны 222 нм с шагом в  $0,5^\circ\text{C}$  и со скоростью нагрева  $1^\circ\text{C}/\text{мин}$ . Кривые плавления  $D_{222}(T)$  сглаживали по методу Савицкого—Голея. Нормированную кривую плавления  $h(T)$  получали, используя следующее соотношение [12]:

$$h(T) = (D_{222}(T) - D_{222}^{\min}(T)) / (D_{222}^{\max}(T) - D_{222}^{\min}(T)),$$

где  $D_{222}^{\max}(T)$  и  $D_{222}^{\min}(T)$  — минимальные и максимальные значения оптической плотности при 222 нм, соответствующие нативному и денатурированному состояниям белков в процессе плавления.

Гиперхромный эффект  $G$  определяли по формуле

$$G = \frac{D_{222}^{\max}(T) - D_{222}^{\min}(T)}{D_{222}^{\min}(T)} \cdot 100\%.$$

Температуру плавления определяли как точку максимума дифференциальной кривой плавления  $dh(T)/dT$ .

**Результаты и обсуждение.** Нами был проведён анализ вторичной структуры САЧ в комплексах с ионами  $Mn^{2+}$  и  $Ca^{2+}$ . ИК-спектроскопия — один из немногих спектральных методов, позволяющих делать не только качественную, но и количественную оценку содержания вторичной структуры в белках. Возможность регистрации ИК-спектров водных растворов альбуминов в концентрациях близких к физиологическим выгодно отличает этот подход от иных методов анализа вторичной структуры белков.

**ИК-фурье-спектроскопия.** Наиболее чувствительной областью инфракрасного

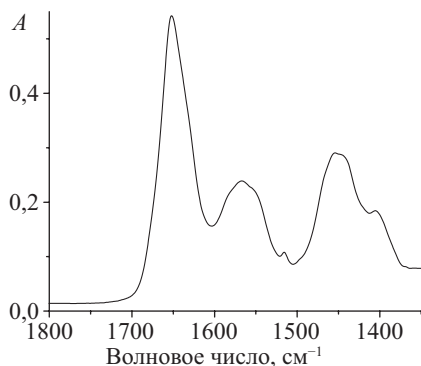


Рис. 1. ИК-спектр поглощения сывороточного альбумина человека в растворе  $D_2O$

спектра белка к его вторичной структуре является область от 1700 до 1600  $cm^{-1}$ , где наблюдаются валентные колебания группы  $C=O$  в пептидной связи. Эти колебания проявляются в спектре в виде характерной спектральной полосы, называемой Амид I. Однако в этом же спектральном диапазоне проявляются деформационные колебания молекул воды, дающие сильную полосу поглощения, которая перекрывается с полосой Амид I. Один из наиболее простых путей разделения указанных спектральных вкладов состоит в проведении изотопного замещения растворителя [9, 13, 14]. В работе были получены спектры ИК-поглощения САЧ и его комплексов с ионами металлов в растворе  $D_2O$ . Вид зависимости поглощения  $A$  от волнового

числа  $\nu$  САЧ в  $D_2O$  представлен на рис. 1.

На спектре белка хорошо видны полосы Амид I и Амид II'. Полоса Амид II' находится в области от 1500 до 1400  $cm^{-1}$ , где наблюдаются деформационные колебания группы  $N-D$  в пептидной связи. В данной работе анализировалась полоса Амид I, как наиболее чувствительная к формированию элементов вторичной структуры область ИК-спектра [9, 13, 14].

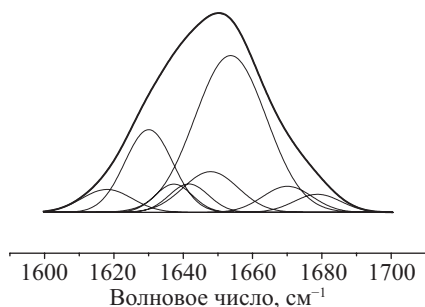


Рис. 2. Разложение полосы Амид I

Для определения вторичной структуры белка в пробе необходимо привести разложение полосы Амид I на составляющие ее спектральные линии (рис. 2). Положение максимумов в разложении определяется по положению минимумов второй производной кривой  $A(\nu)$  в области полосы Амид I [9]. Разложение проводили по описанной ранее методике [10, 11, 15]. Отнесение спектральных полос приведено в табл. 1.

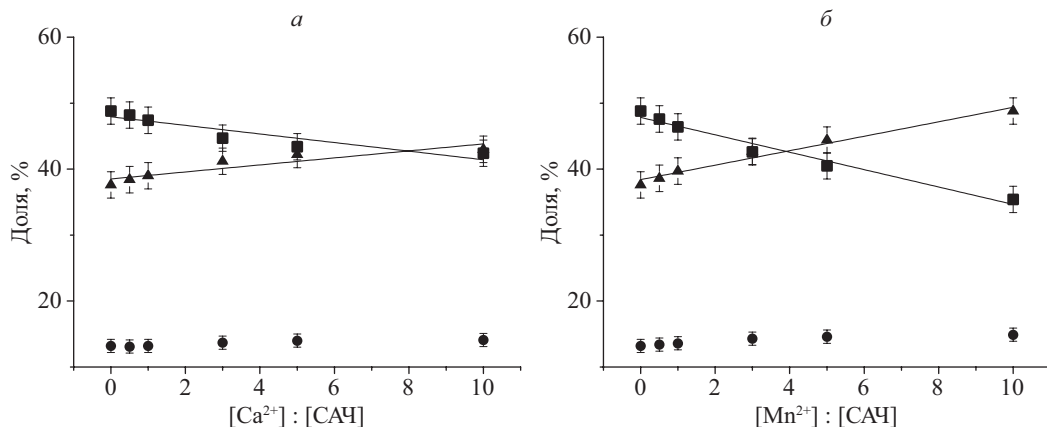


Рис. 3. Процентное содержание основных типов вторичных структур в САЧ в зависимости от концентрации  $Ca^{2+}$  (а) и  $Mn^{2+}$  (б) в растворе:

квадраты —  $\alpha$ -спираль; треугольники —  $\beta$ -структуры; круги — неупорядоченная конформация

На рис. 3 приведены графики зависимости доли основных типов вторичных структур в общей вторичной структуре белка от соотношения  $[Me^{2+}] : [CACh]$  для  $Ca^{2+}$  и  $Mn^{2+}$ .

Представленные на рис. 3, зависимости для обоих металлов в целом носят схожий характер. Присутствие ионов  $Ca^{2+}$  приводит к относительно небольшим изменениям в структуре САЧ (рис. 3, а). В частности с увеличением концентрации ионов  $Ca^{2+}$  прослеживается тенденция к увеличению доли  $\beta$ -структур (с 37 до 43%) за счёт уменьшения в структуре белка количества  $\alpha$ -спиральных участков (с 49 до 42%). Похожая картина наблюдается и при добавлении к САЧ ионов  $Mn^{2+}$  (рис. 3, б). Однако в этом случае, изменения в структуре проявляются значительно отчётливее: доля  $\beta$ -структур возрастает с 37 до 49%, при одновременном снижении степени  $\alpha$ -спиральности белка с 49 до 35%.

Более подробный анализ разложения полосы Амид I показал, что присутствие ионов  $Mn^{2+}$  сопровождается увеличением доли параллельных  $\beta$ -слоёв ( $1675\text{ см}^{-1}$ ), тогда как доля антипараллельных  $\alpha$ -структур ( $1630\text{ см}^{-1}$ ) практически не изменяется. Это может означать, что присутствие ионов  $Ca^{2+}$  и  $Mn^{2+}$  приводит к образованию белковых гомодимеров и/или агрегатов. Данное предположение косвенно подтверждается ростом рассеяния в растворах комплексов, причём величина рассеяния возрастает в ряду  $CACh < CACh/NaCl < CACh/CaCl_2 < CACh/MnCl_2$  (данные не представлены).

**Тепловая денатурация белков.** Дополнительно нами было проведено исследование стабильности белков в присутствии ионов металлов методом тепловой денатурации. За процессом денатурации следили по увеличению оптической плотности растворов

Таблица 1

Соответствие спектральных полос различным типам вторичных структур белков в растворах  $D_2O$  [9]

Положение максимума, $\text{см}^{-1}$	Тип вторичной структуры
$1624 \pm 4,0$	$\beta$ -слой
$1631 \pm 3,0$	$\beta$ -слой
$1637 \pm 3,0$	$\beta$ -слой
$1641 \pm 2,0$	$3_{10}$ спираль
$1645 \pm 4,0$	неупорядоченная конформация
$1653 \pm 4,0$	$\alpha$ -спираль
$1663 \pm 4,0$	$\beta$ -поворот
$1671 \pm 3,0$	$\beta$ -поворот
$1675 \pm 5,0$	$\beta$ -слой
$1683 \pm 2,0$	$\beta$ -поворот
$1689 \pm 2,0$	$\beta$ -поворот
$1694 \pm 2,0$	$\beta$ -поворот

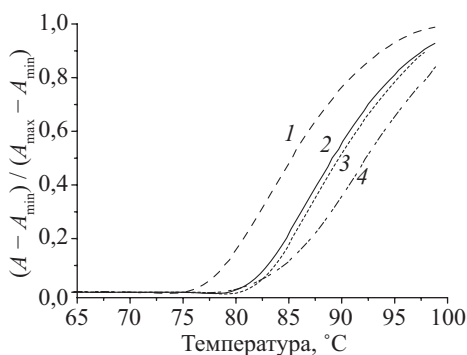


Рис. 4. Нормированные кривые плавления САЧ в растворах, содержащих NaCl, CaCl<sub>2</sub> MnCl<sub>2</sub>:

изображены нормированные кривые плавления водного раствора САЧ в 30мМ NaCl (1), а также его растворов в присутствии NaCl (2), MnCl<sub>2</sub> (3) и CaCl<sub>2</sub> (4); кривые 3 и 4 получены для растворов с молярным соотношением [Me<sup>2+</sup>] : [САЧ] = 10 : 1, а кривая 2 соответствует раствору NaCl с ионной силой эквивалентной ионной силе растворов 3 и 4

в области поглощения пептидной связи при повышении температуры. Для того чтобы разделить эффекты специфического связывания двухвалентных ионов и неспецифического экранирования заряженных групп белка однозарядными ионами, мы провели тепловую денатурацию белка в растворе NaCl, имеющем ту же ионную силу, что и образцы, содержащие ионы Ca<sup>2+</sup> и Mn<sup>2+</sup>. На рис. 4 представлены нормализованные кривые плавления для САЧ и его комплексов, а соответствующие температуры плавления приведены в табл. 2. На основании полученных данных можно заключить: присутствие в среде ионов Ca<sup>2+</sup> и Mn<sup>2+</sup> приводит к стабилизации структуры белка, что проявляется в увеличении температуры его плавления на 4 и на 1°С соответственно.

Таблица 2

**Температуры плавления САЧ в присутствии NaCl, CaCl<sub>2</sub> MnCl<sub>2</sub>**

Содержание соли ([Me <sup>2+</sup> ] : [САЧ] = 10 : 1)	30мМ NaCl	NaCl	CaCl <sub>2</sub>	MnCl <sub>2</sub>
Температура плавления (±0,5°С)	83,8	86,7	90,8	87,7

Незначительный рост температуры плавления САЧ в присутствии марганца в совокупности со значительным уровнем рассеяния света в растворе позволяет предположить, что ионы марганца индуцируют формирование межмолекулярных белковых комплексов. В противоположность марганцу ионы кальция заметно повышают температуру плавления САЧ в комплексе при значительно меньшем росте уровня рассеяния света. Последнее обстоятельство позволяет нам предполагать, что связывание ионов Ca<sup>2+</sup> стабилизирует структуру белка за счёт внутримолекулярных взаимодействий с молекулой САЧ. Согласно данным инфракрасной спектроскопии связывание ионов сопровождается несколько различным изменением вторичной структуры белков. На основе результатов, полученных различными методами, мы полагаем, что связывание ионов марганца приводит к формированию межмолекулярных белковых комплексов, которое сопровождается изменением вторичной структуры белка за счёт увеличения доли межмолекулярных β-слоёв, не затрагивая существенно структуру глобулярной части белка. Связывание ионов Ca<sup>2+</sup>, напротив, приводит к повышению стабильности белковой молекулы в результате изменения вторичной структуры глобулярного домена.

**Заключение.** Исследование взаимодействия ионов металлов с белками продолжает оставаться актуальной задачей, что связано с предположительной ролью ионов в образовании белковых агрегатов. В данной работе были исследованы комплексы сывороточного альбумина человека (САЧ) с ионами двухвалентных металлов Ca<sup>2+</sup> и Mn<sup>2+</sup> в водных растворах. В работе было показано, что связывание ионов сопровождается изменением вторичной структуры белков, однако, механизмы наблюдаемых изменений

для ионов  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{Mn}^{2+}$  различны. Изменение вторичной структуры белка при связывании марганца обусловлено формированием межмолекулярных  $\beta$ -слоёв, тогда как кальций изменяет вторичную структуру глобулярного домена САЧ.

\*\*\*

Часть исследований проведена в Ресурсных центрах «Оптические и лазерные методы исследования вещества» и «Центр диагностики функциональных материалов для медицины, фармакологии и нанoeлектроники» Санкт-Петербургского государственного университета.

## Литература

1. Timerbaev A. R., Hartinger C. G., Aleksenko S. S., Keppler B. K. Interactions of antitumor metallo-drugs with serum proteins: Advances in characterization using modern analytical methodology // *Chem. Rev.* 2006. Vol. 106, N. 6. P. 2224–2248.
2. Agudelo D., Bérubé G., Tajmir-Riahi H. A. An overview on the delivery of antitumor drug doxorubicin by carrier proteins // *Int. J. Biol. Macromolecules*. 2016. Vol. 88. P. 354–360.
3. Protein-metal interaction / ed. by M. Friedman. *Advances in experimental medicine and biology*. Vol. 48. New York: Springer, 1974.
4. Sokolowska M., Pawlas K., Bal W. Effect of common buffers and heterocyclic ligands on the binding of Cu(II) at the multimetal binding site in human serum albumin // *Bioinorg. Chem. App.* 2010. Vol. 2010. P. 725153.
5. Carter D. C., Ho J. X. Lipoproteins, apolipoproteins, and lipases // *Adv. Protein Chem.* 1994. Vol. 45. P. 153–203.
6. Giacomazza D., Mangione M. R., Bulone D., Martorana V., Navarra G., San Biagio P. L. Influence of exogenous and endogenous ions on the properties of BSA // *Serum Albumin: Structure, Functions and Health Impact* / eds R. J. Alekseev, A. L. Rebore. Nova Science Publishers, Inc., 2012. P. 145–165.
7. Majorek K. A., Porebski P. J., Dayal A., Zimmerman M. D., Jablonska K., Stewart A. J., Chruszcz M., Minor W. Structural and immunologic characterization of bovine, horse, and rabbit serum albumins // *Molecular Immunology*. 2012. Vol. 52, P. 174–182.
8. Serdyuk I. N., Zaccari N. R., Zaccari J. *Methods in molecular biophysics: Structure, dynamics, function*. Cambridge University Press, 2007.
9. Kong J., Yu S. Fourier transform infrared spectroscopic analysis of protein secondary structures // *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*. 2007. Vol. 39, N 8. P. 549–559.
10. Полянничко А. М., Романов Н. М., Старкова Т. Ю., Костылёва Е. И., Чихиржина Е. В. Анализ вторичной структуры линкерного гистона H1 по спектрам инфракрасного поглощения // *Цитология*. 2014. Т. 56, № 4. С. 316–322.
11. Polyanichko A. M., Romanov N. M., Starkova T. Y., Kostyleva E. I., Chikhirzhina E. V. Analysis of the secondary structure of linker histone H1 based on IR absorption spectra // *Cell and Tissue Biology*. 2014. Vol. 8, P. 352–358.
12. Чихиржина Е. В., Старкова Т. Ю., Костылёва Е. П., Чихиржина Г. И., Воробьёв В. И., Полянничко А. М. Взаимодействие ДНК со спермий-специфическими гистонами семейства H1 // *Цитология*. 2011. Т. 53. P. 826–831.
13. Byler D. M., Susi H. Examination of the secondary structure of proteins by deconvolved FTIR spectra // *Biopolymer*. 1986. Vol. 25. P. 469–487.
14. Susi H., Byler D. M. Protein structure by Fourier transform infrared spectroscopy: second derivative spectra // *Biochem. Biophys. Research Commun.* 1983. Vol. 115. P. 391–397.
15. Belaya I., Chikhirzhina E., Polyanichko A. Interaction of DDP with bovine serum albumin facilitates formation of the protein dimers // *J. Molecular Structure*. 2017. Vol. 1140. P. 148–153.

## References

1. Timerbaev A. R., Hartinger C. G., Aleksenko S. S., Keppler B. K. Interactions of antitumor metal-lodrugs with serum proteins: Advances in characterization using modern analytical methodology. *Chem. Rev.*, 2006, vol. 106, no. 6, pp. 2224–2248.
2. Agudelo D., Bérubé G., Tajmir-Riahi H. A. An overview on the delivery of antitumor drug doxorubicin by carrier proteins. *Int. J. Biol. Macromolecules*, 2016, vol. 88, pp. 354–360.



3. *Protein-metal interaction*. Ed by M. Friedman. *Advances in experimental medicine and biology*, vol. 48. New York, Plenum Press, 1974.
4. Sokołowska M., Pawlas K., Bal W. Effect of common buffers and heterocyclic ligands on the binding of Cu(II) at the multimetal binding site in human serum albumin. *Bioinorg. Chem. App.*, 2010, vol. 2010, 725153.
5. Carter D. C., Ho J. X. Lipoproteins, apolipoproteins, and lipases. *Adv. Protein Chem.*, 1994, vol. 45, pp. 153–203.
6. Giacomazza D., Mangione M. R., Bulone D., Martorana V., Navarra G., San Biagio P. L. Influence of exogenous and endogenous ions on the properties of BSA. *Serum Albumin: Structure, Functions and Health Impact*. Eds R. J. Alekseer, A. L. Rebone. Nova Science Publishers, Inc., 2012, pp. 145–165.
7. Majorek K. A., Porebski P. J., Dayal A., Zimmerman M. D., Jablonska K., Stewart A. J., Chruszcz M., Minor W. Structural and immunologic characterization of bovine, horse, and rabbit serum albumins. *Molecular Immunology*, 2012, vol. 52, pp. 174–182.
8. Serdyuk I. N., Zaccai N. R., Zaccai J. *Methods in molecular biophysics: Structure, dynamics, function*. Cambridge University Press, 2007.
9. Kong J., Yu S. Fourier transform infrared spectroscopic analysis of protein secondary structures. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, 2007, vol. 39, no 8, pp. 549–559.
10. Polyanichko A. M., Romanov N. M., Starkova T. Y., Kostyleva E. I., Chikhirzhina E. V. Analiz vtorichnoi struktury linkirnogo gistona N1 po spektram infrakrasnogo pogloshcheniia [Analysis of the secondary structure of linker histone H1 based on IR absorption spectra]. *Tsitologiya*, 2014, vol. 56, no 4, pp. 316–322. (In Russian)
11. Polyanichko A. M., Romanov N. M., Starkova T. Y., Kostyleva E. I., Chikhirzhina E. V. Analysis of the secondary structure of linker histone H1 based on IR absorption spectra. *Cell and Tissue Biology*, 2014, vol. 8, pp. 352–358.
12. Chikhirzhina E. V., Starkova T. Y., Kostyleva E. I., Chikhirzhina G. I., Vorob'ev V. I., Polyanichko A. M. Vzaimodeistvie DNK so spermii-spetsificheskimi gistonami semeistva H1 [Conformational properties of nuclear protein HMGB1 and specificity of its interaction with DNA]. *Tsitologiya*, 2011, vol. 53, pp. 826–831. (In Russian)
13. Byler D. M., Susi H. Examination of the secondary structure of proteins by deconvolved FTIR spectra. *Biopolymers*, 1986, vol. 25, pp. 469–487.
14. Susi H., Byler D. M. Protein structure by Fourier transform infrared spectroscopy: second derivative spectra. *Biochem. Biophys. Research Commun.*, 1983, vol. 115, pp. 391–397.
15. Belaya I., Chikhirzhina E., Polyanichko A. Interaction of DDP with bovine serum albumin facilitates formation of the protein dimmers. *J. Molecular Structure*, 2017, vol. 1140, pp. 148–153.

Статья поступила в редакцию 30 июня 2016 г.

#### Контактная информация

Романов Николай Михайлович — аспирант; e-mail: nikmromanov@gmail.com

Андреева Мария Валерьевна — студентка; e-mail: andreeva.masha@mail.ru

Чихиржина Елена Всеволодовна — кандидат биологических наук, доцент;  
e-mail: chikhir@gmail.com

Поляничко Александр Михайлович — кандидат физико-математических наук, доцент;  
e-mail: a.polyanichko@spbu.ru

Romanov Nikolai M. — post-graduate student; e-mail: nikmromanov@gmail.com

Andreeva Maria V. — student; e-mail: andreeva.masha@mail.ru

Chikhirzhina Elena V. — PhD, Associate Professor; e-mail: chikhir@gmail.com

Polyanichko Alexander M. — PhD, Associate Professor; e-mail: a.polyanichko@spbu.ru